

537, 816

101537816

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
22 juillet 2004 (22.07.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/060393 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 38/43

(74) Mandataire : CABINET GERMAIN & MAUREAU;
BP 6153, F-69466 Lyon Cedex 06 (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/003883

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international :
23 décembre 2003 (23.12.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Données relatives à la priorité :
02/16871 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR
02/16872 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR
02/16873 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR
02/16874 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR

(71) Déposant et

Publiée :

(72) Inventeur : THOREL, Jean-Noël [FR/FR]; 3, rue la
Rochelle, F-75014 Paris (FR).

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

(72) Inventeur; et

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) :
REDZINIAK, Gérard [FR/FR]; 38, rue Prosper Legouté,
F-92160 Antony (FR).

(54) Title: CUTANEOUS METABOLIC BIO-ACTIVATOR

(54) Titre : BIO-ACTIVATEUR METABOLIQUE CUTANE

WO 2004/060393 A2

(57) Abstract: The invention relates to a cosmetic composition comprising a bio-active system which combines (i) a stable form in aqueous solution of ATP (adenosine-tri-phosphate) with optionally an ATP precursor, e.g. Gp₄G (diguanosine tetraphosphate), or Ap₄A (diadenosine tetraphosphate), and (ii) at least one biomimetic peptide comprising at most six amino acids, mimicking a cutaneous polypeptide or a cutaneous protein, or a biomolecule which is agonist or antagonist in relation to the aforementioned polypeptide or protein. According to the invention, the composition takes the form of a water-in-oil or oil-in-water emulsion, the bio-active system being included in the aqueous phase.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une composition cosmétique comprenant un système bioactif associant, d'une part une forme stable en solution aqueuse d'ATP (adénosine-tri-phosphate) avec éventuellement un précurseur d'ATP, par exemple Gp₄G (diguanosine tétraphosphate), ou Ap₄A (diadénosine tétraphosphate), et d'autre part au moins un peptide biomimétique comprenant au plus six acides aminés, mimant un polypeptide cutané ou une protéine cutanée, ou une biomolécule agoniste ou antagoniste audit polypeptide ou à ladite protéine. Selon l'invention la composition est sous forme d'une émulsion eau dans huile ou huile dans eau, le système bioactif étant compris dans la phase aqueuse.

Bio-activateur métabolique cutané

La présente invention concerne de manière générale les compositions cosmétiques.

5 La présente invention a pour objet de mettre en œuvre par la voie cosmétique, un nouveau concept de viabilité et/ou stimulation cellulaire cutanée, désigné sous le vocable de bioaktivité métabolique. Plus particulièrement, l'invention concerne un bioactivateur métabolique cutané.

10 Le mode de vie de l'individu, l'environnement agressif et l'évolution chrono-biologique dégénérative ont pour conséquence que les fonctions biologiques et facultés vitales des tissus cutanés s'affaiblissent dans le temps. Il apparaît donc essentiel de rétablir ou maintenir un bon fonctionnement métabolique et catabolique des cellules de la peau (kératinocytes, cellules de 15 Langerhans, mélanocytes, fibroblastes, etc...) pour que celles-ci échangent avec leur environnement, et de l'énergie exogène, et de l'information fonctionnelle.

La présente invention a donc pour objet d'augmenter ou corriger, 20 naturellement, les capacités vitales de la peau, par la conjonction d'un apport exogène d'énergie et de la stimulation de messages intercellulaires. La synergie entre cet apport et cette stimulation permet à la peau de réagir contre toute agression ou tout dysfonctionnement, et ce en activant des mécanismes métaboliques préexistant dans la peau (moléculaires, cellulaires, tissulaires), et 25 en optimisant le cas échéant l'interaction entre la peau et le ou les actif(s) cosmétique(s) apporté(s) par des soins ou traitements dermo-cutanés.

A cette fin, la présente invention propose une composition cosmétique comprenant un système bioactif associant, d'une part une forme 30 stable en solution aqueuse d'ATP (adenosine-triphosphate) avec éventuellement un précurseur d'ATP, par exemple Gp₄G (diguanosine tetraphosphate) ou Ap₄A (diadénosine tetraphosphate), et d'autre part au moins un peptide biomimétique comprenant au plus six acides aminés, mimant un polypeptide cutané ou une protéine cutanée, ou une biomolécule agoniste 35 ou antagoniste audit peptide ou à ladite protéine.

Par « composition cosmétique », on entend toute composition ayant pour fonction de maintenir, restaurer, ou améliorer l'aspect des parties superficielles du corps humain, à titre principal de la peau, et ce quelque soit le mode d'administration de ladite composition, à savoir par voie externe topique, 5 ou par voie interne orale.

Par « précurseur d'ATP », on entend tout composé biochimique intermédiaire dans la biosynthèse de novo d'ATP ; de manière préférée, le précurseur d'ATP est le Gp₄G (ou diguanosine tetraphosphate) ou l'Ap₄A 10 (diadénosine tetraphosphate).

Par « peptide biomimétique », on entend tout peptide comprenant au plus six acides aminés, mimant un peptide cutané ou une protéine cutanée, ou une biomolécule agoniste ou antagoniste audit peptide ou à ladite protéine, 15 lequel ou laquelle joue un rôle ou intervient dans une biosynthèse cutanée ou le transfert d'une information cutanée.

PREFERENTIELLEMENT, on retient à titre de peptide mimé, les peptides ou protéines modulant les propriétés de la peau et l'immunité.

20

A titre d'exemple des peptides ou protéines de la peau, mimés par les peptides appartenant au système bioactif selon la présente invention, on retient :

1) les neuromédiateurs, dont les catécholamines (dopamine, 25 adrénaline, noradrénaline), les endorphines (par exemple béta-endorphine), et les enképhalines (par exemple met-enképhalines) ; à titre d'exemple, on retient :

- la somatostatine ; cf SEQ ID n° 3
- le peptide β CGRP ; cf SEQ ID n° 6
- 30 - la β endorphine ; cf SEQ ID n° 9
- la Leu-enképhaline ; cf SEQ ID n° 10
- la Met-enképhaline ; cf SEQ ID n° 11.

2) les neuropeptides, par exemple :

- la substance P ; cf SEQ ID n° 1
- 35 - le neuropeptide Y ; cf SEQ ID n° 2
- la neurotensine ; cf SEQ ID n° 4

- le peptide α CGRP (« calcitonin gene related peptide ») ; cf SEQ ID n° 5
- les neurokinines A et B
- le peptide GRP (gastrin releasing peptide) ; cf SEQ ID n° 7
- 5 - la bradykinine ; cf SEQ ID n° 8
- 3) les neurohormones, par exemple :
 - le peptide α -MSH (« melanocyte stimulating hormone ») ; cf SEQ ID n° 12
 - le peptide ACTH (« adrénocortico-trophic hormone ») ; cf SEQ ID n° 13
 - 10 - le peptide dit « prolactin releasing » ; cf SEQ ID n° 14.

A titre d'exemple, un peptide biomimétique mis en œuvre selon la présente invention mime un peptide antagoniste de la substance P, ou du peptide CGRP.

A titre d'exemple, un peptide biomimétique mis en œuvre selon la présente invention mime un peptide agoniste de la somatostatine.

20 A titre d'exemple, un peptide biomimétique mis en œuvre selon la présente invention mime un peptide antagoniste ou modulateur du neuropeptide Y.

25 A titre d'exemple, un peptide biomimétique mis en œuvre selon la présente invention mime un peptide antagoniste du récepteur de la bradykinine.

A titre d'exemple, un peptide biomimétique mis en œuvre selon la présente invention mime un peptide agoniste ou antagoniste de l' α -MSH.

30 Par « mimer » ou « mimétisme », on entend la caractéristique selon laquelle le peptide considéré exerce *in vitro*, et en particulier dans une composition selon l'invention, un effet biologique similaire à ou proche d'une fonction biologique *in vivo* (par exemple dans la peau) d'une biomolécule de 35 référence (par exemple peptide ou protéine).

Par « peptide », dans toute la description et les revendications, il faut entendre aussi bien une suite de plusieurs acides aminés non substitués, qu'une suite des mêmes acides aminés, dont certains, par exemple l'acide aminé N-terminal et / ou l'acide aminé C-terminal sont substitués par un 5 groupement ou substituant, fonctionnel ou non.

Ces peptides peuvent être obtenus soit par synthèse chimique classique (en phase solide ou en phase homogène liquide), soit par synthèse enzymatique (Kullman et al., J. Biol. Chem. 1980, 255, 8234) à partir des 10 acides aminés constitutifs ou de leurs dérivés.

Ces peptides peuvent également être obtenus par fermentation d'une souche de bactérie modifiée ou non par génie génétique, pour produire les séquences recherchées ou leurs différents fragments.

Enfin, ces peptides peuvent être obtenus par extraction de 15 protéines d'origine animale ou végétale, préférentiellement végétale, suivie d'une hydrolyse contrôlée qui libère les peptides en question. De nombreuses protéines trouvées dans les plantes sont susceptibles de contenir des séquences intéressantes au sein de leur structure. L'hydrolyse ménagée permet de dégager ces fragments peptidiques.

20

Conformément à la présente invention et selon une première variante, le système bioactif retenu au sein de la composition cosmétique constitue à lui seul le principe actif de cette dernière.

Dans ce cas, le peptide biomimétique retenu permet de 25 « fonctionnaliser » la composition cosmétique ; par exemple :

- en retenant un mimétisme avec l' α -MSH, on obtient une activité pigmentante ; à l'inverse en retenant un mimétisme avec un antagoniste de l' α -MSH, on obtient une activité dépigmentante.

30 - en retenant un mimétisme avec un peptide antagoniste de la substance P, on obtient un effet apaisant.

- en retenant un mimétisme avec un peptide antagoniste du peptide CGRP, on obtient un effet inhibant les irritations d'origine neurogène.

- en retenant un mimétisme avec un peptide antagoniste de la bradykinine, on obtient un effet inhibant toute intolérance ou sensibilisation.

35

Selon une deuxième variante, le système bioactif retenu au sein de la composition cosmétique potentialise un ou plusieurs principes actifs, présents au sein de celle-ci.

5 Grâce à l'invention, le système bioactif caractérisant cette dernière permet tout à la fois de restaurer et / ou de maintenir l'activité naturelle de l'épiderme. Ceci est particulièrement vérifié si la composition cosmétique contient de plus des nutriments de la peau, et / ou une phase aqueuse assurant la viabilité des cellules cutanées.

10 La présente invention présente encore les modes d'exécution suivants :

- la forme stable d'ATP est un sel de sodium, par exemple un sel disodique d'ATP,

15 - le peptide biomimétique est fonctionnellement actif dans une biosynthèse d'une molécule de structure de la peau, ou d'une enzyme présente dans la peau,

20 - le peptide biomimétique est fonctionnellement actif dans le transfert d'informations dans la peau, et est par exemple une fraction biologiquement active d'une hormone ou d'une cytokine présente dans la peau,

25 - le peptide biomimétique est choisi dans le groupe constitué par l'histidine-β-alanyl (mime la superoxyde-dismutase), le peptide R-Gly-Gln-Pro-Arg, le peptide Tyr-Arg, le peptide R-Lys-Thr-Thr-Lys-Ser, le N-acetyl Tyr-Arg-R (mime les endorphines); R étant un acide aminé quelconque ; le peptide Lys-Thr-Thr-Lys-Ser, le peptide Ala-Arg-His-Leu-Phe-Tyr (mime l'alpha MSH), le peptide Gly-Gln-Asp-Pro-Val-Lys (mime l'elafine),

30 - le peptide biomimétique est par exemple un dipeptide ; à cet égard, le dipeptide peut répondre à la formule Arg-R ou His-R, dans laquelle R est un acide aminé quelconque ; ou encore le dipeptide peut être sous forme oligomère, de formule $(R-R)_n$, avec $1 < n < 3$; par exemple le dipeptide répond à la formule $(Arg-Lys)_n$, avec $1 < n < 3$,

35 - le peptide biomimétique est un tripeptide, par exemple répondant à la formule Gly-His-Lys, ou Gly-Glu-Pro, ou Lys-Pro-Val,

 - le peptide biomimétique est un tetrapeptide, par exemple répondant à la formule Leu-Pro-Thr-Val, ou Lys-Thr-Ser-R ou Gly-Glu-Pro-R ; R étant un acide aminé quelconque,

- le peptide biomimétique est un pentapeptide, par exemple Val-Ala-Lys-Leu-R ; R étant un acide aminé quelconque,

5 - le peptide biomimétique est un hexapeptide ; à titre d'exemple, le peptide biomimétique est Ala-R₁-R₂-R₃-Phe-Try, avec R₁, R₂, R₃ égal chacun à un acide aminé quelconque,

- la composition cosmétique peut comprendre un acide aminé, aux côtés du système bioactif, ledit acide aminé étant choisi par exemple dans le groupe constitué par la créatine, la decarboxycarnosine, une glutamine, par exemple le N-acetylglutamine,

10 - la composition cosmétique selon l'invention peut comprendre, aux côtés du système bioactif, une protéine, par exemple choisie dans le groupe constitué par la superoxyde dismutase, les endonucléases, la photolyase, et les cytokines de lait,

15 - le système bioactif représente au plus 10 %, et préférentiellement entre 1 % et 10⁻⁷ % en poids de ladite composition,

- la composition cosmétique selon l'invention comprend au moins un principe actif cosmétique, potentialisé par le système bioactif selon l'invention,

20 - classiquement, la composition cosmétique est sous forme d'une émulsion eau dans huile ou huile dans eau, le système bioactif étant compris, par exemple en solution, dans la phase aqueuse,

- dans le système bioactif selon l'invention, l'ATP et éventuellement le précurseur d'ATP représentent au plus 10 %, et préférentiellement entre 0,01 % et 5 % en poids.

25

La quantité efficace d'actif(s) éventuellement présent(s) dans une composition selon l'invention correspond à la quantité nécessaire pour obtenir le résultat désiré, et les compositions suivant l'invention dépendent de l'usage auxquels ces compositions sont destinées.

30

Une première catégorie comprend les compositions cosmétiques destinées à être appliquées sur une peau saine, afin d'en améliorer l'esthétique et le confort. Une peau saine peut être définie comme exempte de pathologie, mais sans pour autant être en parfait état. Cette peau peut présenter des signes de sécheresse, des signes d'irritation, des rides liées au vieillissement chronologique ou actinique, des zones d'hyper-sécrétion de sébum, d'hyper ou d'hypo-pigmentation. De plus, la peau saine peut avoir besoin d'une

photoprotection temporaire ou permanente, afin de mieux résister à la lumière solaire.

Une autre catégorie comprend les compositions destinées à être appliquées sur des peaux fragilisées par la maladie ou des médicaments, soit à titre préventif, soit au titre d'un traitement relais à des traitements médicaux.

Les compositions cosmétiques selon la présente invention peuvent encore comprendre au moins un actif cosmétique choisi parmi les antioxydants, les agents anti-radicaux libres, les α -hydroxyacides, les vitamines, les filtres ou écrans solaires, les agents répulsifs contre les insectes, les anti-inflammatoires.

Bien entendu, l'homme de l'art veillera à choisir ce ou ces éventuels actifs, et/ou leurs quantités, de manière telle que les propriétés avantageuses du système bioactif selon l'invention ne soient pas, ou substantiellement pas, altérées par la ou les adjonctions envisagées. De préférence une synergie entre le système bioactif selon l'invention, et le ou les actifs considérés, sera recherchée.

Les compositions de l'invention peuvent être préparées selon les techniques bien connues de l'homme de l'art, en particulier celles destinées à la préparation d'émulsions de type huile-dans-eau (H/E) ou eau-dans-huile (E/H).

Ces compositions peuvent se présenter en particulier sous forme d'émulsion, simple ou complexe : double (H/E ou E/H) ou triple (E/H/E ou H/E/H), telle qu'une crème, un lait, un gel ou un gel-crème ; de poudre, de bâtonnet solide, et éventuellement être conditionnées en aérosol, et se présenter sous forme de mousse ou de spray.

30

Lorsque la composition cosmétique selon l'invention est utilisée pour la protection ou le soin de l'épiderme humain, ou comme composition antisolaire, elle peut se présenter sous forme de suspension ou de dispersion dans des solvants ou des corps gras, sous forme de dispersion vésiculaire non ionique, ou encore sous forme d'émulsion, de préférence de type huile-dans-eau, telle qu'une crème ou un lait, sous forme de pommade, de gel, de gel

crème, de bâtonnet solide, de poudre, de stick, de mousse aérosol ou de spray.

Lorsque la composition cosmétique selon l'invention est utilisée
5 pour la protection des cheveux, elle peut se présenter sous forme de shampooing, de lotion, de gel, d'émulsion, de dispersion vésiculaire non ionique, et constituer par exemple une composition à rincer, à appliquer avant ou après shampooing, avant ou après coloration ou décoloration, avant, pendant ou après permanente ou défrisage ; cette composition peut aussi se
10 présenter sous forme d'une lotion ou d'un gel coiffant ou traitant, d'une lotion ou d'un gel pour le « brushing » ou la mise en plis, d'une composition de permanente ou de défrisage, de coloration ou décoloration des cheveux.

Lorsque la composition est utilisée comme produit de maquillage
15 des ongles, des cils, des sourcils ou de la peau, tel que crème de traitement de l'épiderme, fond de teint, bâton de rouge à lèvres, fard à paupières, fard à joues, mascara ou ligneur, encore appelé « eye liner », elle peut se présenter sous forme solide ou pâteuse, anhydre ou aqueuse, comme des émulsions huile-dans-eau ou eau-dans-huile, des dispersions vésiculaires non ioniques
20 ou encore des suspensions.

Pour les compositions selon l'invention, le pH sera physiologique, compris entre 4 et 7. Lorsqu'elle est appliquée par voie topique, la composition, comprenant au moins un ATP et éventuellement un précurseur, conjugués à au
25 moins un peptide biomimétique, peut être appliquée sur le visage, le cou, le cuir chevelu, les muqueuses, les ongles, le corps, la poitrine, les pieds, les jambes, ou toute autre partie du corps.

Les compositions de l'invention peuvent comprendre en outre des
30 adjuvants cosmétiques classiques, notamment choisis parmi les corps gras, les solvants organiques autres que ceux utilisés spécifiquement dans le cadre de la présente invention, les émulsionnants, les épaississants ioniques ou non ioniques, les adoucissants, les opacifiants, les stabilisants, les émollients, les silicones, les agents anti-mousse, les agents hydratants, les vitamines, les
35 parfums, les conservateurs, les tensioactifs, les charges, les polymères, les propulseurs, les agents alcalinisants ou acidifiants, les colorants ou tous autres

ingrédients habituellement utilisés en cosmétique, en particulier pour la fabrication de compositions sous forme d'émulsions. A titre d'exemple, les compositions selon l'invention comprennent des agents filtrants ou réflecteurs, dans le cas de produits destinés à être utilisés en environnement externe et
5 sous le soleil.

Les corps gras peuvent être constitués par une huile ou une cire, ou leurs mélanges, et ils comprennent également les acides gras, les alcools gras et les esters d'acides gras. Les huiles peuvent être choisies parmi les
10 huiles animales, végétales, minérales ou de synthèse, et notamment parmi l'huile de vaseline, l'huile de paraffine, les huiles de silicone volatiles ou non, les isoparaffines, les polyoléfines, les huiles fluorées et perfluorées. De même, les cires peuvent être choisies parmi les cires animales, fossiles, végétales, minérales ou de synthèse, connues en soi.
15

Parmi les huiles polaires, on peut citer l'huile connue sous la dénomination « Finsolv TN », le triméllitate de tridécyle, l'isononanoate d'isononylique, le myristate d'isopropyle, le décaprylyl carbonate, les benzoates et hydroxy-benzoates d'alcool de Guerbet, comme le produit dénommé « Hallbrite
20 BHB » de la société CP Hall Company.

A titre indicatif, pour les formulations antisolaires conformes à l'invention, qui présentent un support de type émulsion huile-dans-eau, la phase aqueuse (comprenant notamment les filtres hydrophiles) représente
25 généralement de 50 à 95 % en poids, de préférence de 70 à 90 % en poids, par rapport à l'ensemble de la formulation, la phase huileuse (comprenant notamment les filtres lipophiles) de 5 à 50 % en poids, de préférence de 10 à 30 % en poids, par rapport à l'ensemble de la formulation, et le ou les (co)émulsionnant(s) de 0,5 à 20 % en poids, de préférence de 2 à 10 % en
30 poids, par rapport à l'ensemble de la formulation.

De façon particulière, les compositions selon la présente invention peuvent être obtenues sous forme d'une composition anhydre qui présente des propriétés de transparence et de translucidité tout à fait remarquables.

La présente invention a encore pour objet l'utilisation d'une composition cosmétique selon la présente invention, pour la fabrication d'un produit de soins de la peau, d'un produit de maquillage de la peau, des lèvres et/ou des phanères, anti-solaire, et d'une composition dermatologique de soin 5 et/ou de traitement de la peau.

La composition selon l'invention peut se présenter sous la forme d'une composition teintée dermatologique, ou de soin, des matières kératiniques comme la peau, les lèvres et/ou les phanères, sous forme d'une 10 composition de protection solaire ou d'hygiène corporelle, notamment sous forme de produit déodorant ou démaquillant, sous forme de stick. Elle peut notamment être utilisée comme base de soin pour la peau, les phanères ou les lèvres (baumes à lèvres, protégeant les lèvres du froid et/ou du soleil et/ou du vent, crème de soin pour la peau, les ongles ou les cheveux).
15

La composition de l'invention peut également se présenter sous la forme d'un produit coloré de maquillage de la peau, en particulier un fond de teint, présentant éventuellement des propriétés de soin ou de traitement, un « blush », un fard à joues ou à paupières, un produit anti-cerne, un « eye-liner », un produit de maquillage du corps ; de maquillage des lèvres comme un rouge à lèvres, présentant éventuellement des propriétés de soin ou de traitement ; de maquillage des phanères comme les ongles, les cils, en particulier sous forme d'un mascara-pain, les sourcils et les cheveux, notamment sous forme de crayon. En particulier, la composition de l'invention 20 peut être un produit cosmétique contenant, outre le système bioactif, des actifs cosmétiques et/ou dermatologiques.
25

Une composition cosmétique selon l'invention peut en outre comprendre des nacres, des pigments, ou bien encore de nanopigments (taille 30 moyenne des particules primaires : généralement entre 5 nm et 100 nm, de préférence entre 10 nm et 50 nm) d'oxydes métalliques enrobés ou non, comme par exemple des nanopigments d'oxyde de titane (amorphe ou cristallisé sous forme rutile et/ou anatase), de fer, de zinc, de zirconium ou de cérium et leurs mélanges, qui sont tous des agents photoprotecteurs UV bien connus en soi. Des agents d'enrobage classiques sont par ailleurs l'alumine et/ou le stéarate d'aluminium. De tels nanopigments d'oxydes métalliques,
35

enrobés ou non enrobés, sont en particulier décrits dans les demandes de brevets EP-A-0518772 et EP-A-0518773.

Bien entendu, la composition de l'invention doit être
5 cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable, à savoir contenir un milieu physiologiquement acceptable, non toxique, et susceptible d'être appliquée sur la peau, les phanères ou les lèvres d'êtres humains. Par « cosmétiquement acceptable », on entend au sens de l'invention une composition d'aspect, d'odeur et de toucher agréables.

10

ESSAIS

15 Essai n°1

On évalue l'activité bio-simulante du peptide L-citrullyl-Larginine, associé ou non à de l'ATP, sous forme de sel disodique, sur le métabolisme 20 cellulaire des kératinocytes humains normaux.

1. Principe

La procédure consiste à mesurer le taux d'ATP au sein d'une culture de fibroblastes en milieu appauvri en sérum (2%), en comparaison avec :

- un milieu enrichi en citrullyl-arginine, à des concentrations variables,
- un milieu enrichi en ATP, à des concentrations variables,
- un milieu enrichi en citrullyl-arginine et ATP, à des concentrations variables.

Le but de cet essai est d'évaluer l'effet activateur du mélange 35 étudié, associé ou non à de l'ATP di-sodique, vis-à-vis de la synthèse d'ATP par des kératinocytes humains normaux.

2. Méthode

5 ▪ **Culture cellulaire**

L'essai est réalisé sur une culture in vitro de kératinocytes humains normaux, ensemencés à la densité de 10^5 cellules /puits en plaques de 6 puits.

10 ▪ **L-Citrullyl-L-Arginine**

Afin de déterminer les concentrations applicables dans le cadre de l'essai, on réalise un test préalable de viabilité cellulaire sur kératinocytes humains normaux.

15 La L-Citrullyl-L-Arginine est solubilisée dans de l'eau, et la concentration finale est fixée à 0,1%.

6 dilutions d'L-Citrullyl-L-Arginine de $10^{-4}\%$ à $10^{-2}\%$ sont mises au contact des cellules pendant 24h et 48h. Une condition eau est réalisée comme témoin.

20

Pour l'essai, l'L-Citrullyl-L-Arginine sera testé aux 2 concentrations les plus fortes permettant le maintien de la viabilité cellulaire à un taux supérieur à 80% après un contact de 48h, soit 0,0001% et 0,01%.

25 ▪ **Irradiation UV B**

Les kératinocytes, ensemencés en plaques de 6 puits à la densité de 10^5 cellules/puits sont cultivés en milieu standard (Epilife Sigma) pendant 48h. Avant irradiation, le milieu de culture est éliminé, les cellules sont rincées 30 au tampon PBS et 1 ml de celui-ci est laissé au contact des cellules pendant l'irradiation. Les kératinocytes sont soumis à une irradiation UV B (312 nm) de 20 mJ/cm². Une condition non irradiée identique est réalisée en parallèle.

Après irradiation (et sur le parallèle non irradié), le PBS est éliminé 35 et les cellules sont placées dans les différentes conditions étudiées :

- Témoin eau dans le milieu de culture
- L-Citrullyl-L-Arginine à 0,001% dans le milieu de culture
- L-Citrullyl-L-Arginine à 0,01% dans le milieu de culture

5

Chaque condition est réalisée en triplicate.

Après un contact de 24h ou 48h après l'irradiation, les surnageants de culture conditionnés sont récupérés. Le taux d'Endothéline-1 sécrétée par les kératinocytes est mesuré sur 100 µl de surnageant par une technique de dosage ELISA (R&D Systems, Abingdon, UK). Les niveaux d'Endotheline-1 sont calculés grâce à la courbe standard réalisée avec de l'Endothéline-1 humaine synthétisée. Les résultats sont exprimés en pg d'Endothéline-1 normés à la concentration en protéines (pg ET-1/ mg de protéines).

15

3. Résultats

L'application d'L-Citrullyl-L-Arginine pendant 24h à la concentration la plus faible testée (0,0001%) entraîne une augmentation de la sécrétion basale d'Endothéline-1 par les kératinocytes (condition non irradiée), de 20% par rapport au contrôle EAU. A la concentration supérieure (0,01%), cet effet activateur est beaucoup plus marqué : 70%.

L'irradiation UV B entraîne une stimulation de 50% de la sécrétion d'Endothéline-1 par les kératinocytes dans la condition témoin EAU. Après contact 24h avec l' L-Citrullyl-L-Arginine à 0,0001%, la sécrétion d'Endothéline-1 est augmentée de 6 % par rapport au témoin EAU irradié. A 0,001%, l'effet activateur de l'L-Citrullyl-L-Arginine est fortement majoré : 28%.

30 L'application d'L-Citrullyl-L-Arginine pendant 48h à la concentration la plus faible testée (0,0001%) entraîne une augmentation de la sécrétion basale d'Endothéline-1 par les kératinocytes (condition non irradiée) de 26% par rapport au contrôle EAU. A la concentration supérieure : 0,01%, cet effet activateur est beaucoup plus marqué : 82%.

L'irradiation UV B entraîne une stimulation de 40% de la sécrétion d'Endothéline-1 par les kératinocytes dans la condition témoin EAU. Après contact 48h avec l' L-Citrullyl-L-Arginine à 0,0001%, la sécrétion d'Endothéline-1 est en augmentation de 4 % par rapport au témoin EAU irradié. A 0,01%, 5 l'effet activateur de l'L-Citrullyl-L-Arginine est fortement majoré : 63%.

4. Conclusion

10 Dans les conditions expérimentales ainsi définies, pour les dilutions et les temps d'incubation choisis, il s'avère que :

La L-Citrullyl-L-Arginine, à la concentration de 0,01%, exerce un important effet activateur sur la sécrétion d'Endothéline-1 par les kératinocytes humains normaux. 15

En présence d'ATP 0.01% l'effet activateur est stimulé de 20%. Il y a bien un effet synergique entre les molécules d'ATP et du peptide l'L-Citrullyl-L-Arginine.

20 Les même études réalisées avec l'ATP seul ne montrent pas d'effet sur la synthèse d'Endothéline-1.

25

Essai n°2

On étudie l'effet de l'association ATP + dipeptides sur la croissance de fibroblastes humains normaux.

30 Les produits étudiés sont :

- l'ATP, sous forme de sel disodique,
- la β -alanyl-l-histidine (carnosine),
- la citrullyl-arginine (exsylalgine).

35

1. Objectif de l'étude

L'objectif de cet essai est d'évaluer l'effet de l'association ATP + peptides ajoutée à un milieu de culture sur la croissance d'une lignée 5 immortalisée de fibroblastes humains, les cellules HaCaT.

Dans cette étude, 2 peptides sont simultanément et/ou concomitamment associés à l'ATP : la β -alanyl-L-histidine (Dragoco) et la L-citrullyl-L-arginine (Exsymol)

10

L'étude est réalisée sur une culture effectuée dans le milieu de culture standard des cellules HaCaT, le DMEM (SIGMA) en présence de sérum de veau fœtal (SVF) à 2 ou 10%.

15

2. Techniques

Les cellules HaCaT sont ensemencées à faible densité en plaque 96 puits dans le milieu standard (DMEM + 10%SVF) et poussent pendant 24h 20 après ensemencement dans ce milieu.

Au 2ème jour, les cellules sont placées dans les différentes conditions étudiées.

Les concentrations à tester en ATP, β -alanyl-L-histidine (Carnosine) 25 et L-citrullyl-L-arginine (exsyalgine) sont déterminées suite à des études préliminaires de cytotoxicité.

On réalise :

- Une condition témoin : milieu de culture seul + SVF
- 30 • Une condition β -alanyl-L-histidine seule à 0.5%
- Une condition L-citrullyl-L-arginine seule à 0.5%
- Une condition ATP seul à 1 μ g/ml
- Une condition ATP (1 μ g/ml) + β -alanyl-L-histidine (0.5%)
- Une condition ATP (1 μ g/ml) + L-citrullyl-L-arginine (0.5%)
- 35 • Une condition ATP (1 μ g/ml) β -alanyl-L-histidine (0.5%) + L-citrullyl-L-arginine (0.5%)

Ces différentes conditions sont réalisées à la fois dans le DMEM à 2% et à 10% SVF.

5 Chaque condition est réalisée en triplicate. Les milieux ne sont pas renouvelés au cours de l'expérimentation.

La densité cellulaire est évaluée 24h après l'ensemencement des cellules, avant la mise au contact des différentes conditions d'étude (= T0),
10 puis la croissance des cellules HaCaT est évaluée au 2ème, 5ème et 7ème jours de culture par la méthode de conversion du WST-1 (lecture à 450 nm).

3. Résultats

15

La croissance cellulaire est objectivée par la mesure de la viabilité cellulaire à différents temps de l'expérimentation. Les résultats obtenus présentent le pourcentage de viabilité cellulaire calculé par rapport à la densité cellulaire initiale à T0 pour laquelle on estime avoir une densité cellulaire égale à 100%. Les effets des différents produits sur la croissance cellulaire sont analysés aux différents temps d'expérimentation par rapport au contrôle non traité au même temps d'expérimentation.

➤ Après 2 jours de culture, on observe une absence de croissance avec
25 maintien de la viabilité cellulaire pour la condition témoin par rapport au contrôle T0, qui s'explique par le passage en milieu appauvri en facteur de croissance (SVF 2%).

• L'ajout du β -alanyl-L-histidine seul à la concentration de 0.5% stimule fortement la croissance cellulaire (+22% par rapport au contrôle non traité). A la concentration de 0.1%, on n'observe aucun effet sur la croissance.

- L'ajout d'ATP seul diminue sensiblement la viabilité cellulaire.
- L'ajout d'ATP au β -alanyl-L-histidine entraîne une suppression de l'effet inhibiteur de l'ATP sur la viabilité cellulaire et stimule celle-ci au delà du niveau obtenu avec le β -alanyl-L-histidine seule, et ceci pour les 2 concentrations testées.

• L'ajout du L-citrullyl-L-arginine seul à la concentration de 0.1 et 0.5% ne stimule pas la croissance cellulaire (+ 5%) par rapport au contrôle non traité.

5 ➤ Après 5 jours de culture, on observe une légère diminution de la viabilité cellulaire par rapport au T0 due au maintien de la culture en milieu appauvri en facteur de croissance.

• On retrouve l'effet de stimulation sur la croissance cellulaire du β -alanyl-L-histidine à la concentration de 0.5% (+12%).

10 10 • L'ajout d'ATP seul diminue sensiblement la viabilité cellulaire, effet qui disparaît suite à l'ajout du β -alanyl-L-histidine à 0.5%.

• La L-citrullyl-L-arginine seule ne stimule toujours pas la croissance cellulaire, quelque soit la concentration utilisée.

15

4. Conclusion

Dans les conditions expérimentales ainsi définies et aux concentrations testées, il apparaît que l'ajout d'ATP seul diminue sensiblement 20 la viabilité de fibroblastes humains normaux après 2 à 5 jours de contact (-5 à -10%).

L'association ATP + β -alanyl-L-histidine annule l'effet inhibiteur de l'ATP sur la viabilité cellulaire et stimule celle-ci au delà du niveau obtenu avec 25 la β -alanyl-L-histidine seule, qui exerce un effet de stimulation de la croissance cellulaire à la concentration de 0.5%.

L'association ATP + L-citrullyl-L-arginine n'exerce aucun effet de stimulation de la croissance cellulaire, quelque soit la concentration utilisée.

30

35

Essai n°3**1. Culture de cellules**

5

Les cultures de mélanocytes humains normaux (MHN) sont réalisées à partir de prépuces d'enfants et de nouveau-nés ayant un phimosis. Les mélanocytes obtenus à partir de fragments de peau sont placés dans le milieu MCDB 153 (Sigma St Louis, MO, USA) supplémenté avec 30 µg/ml 10 d'extrait pituitaire bovin (BPE) (Life Technologies, Paisley, Angleterre), 2% de sérum de veau fœtal (SVF) (Dominique Dutscher, Brumath, France), 16 nM de phorbol-12-myristate-13-acetate (Sigma), 5µg/ml d'insuline et 1.1 µM d'hydrocortisone (Sigma). Les cultures sont maintenues dans un incubateur à 37°C et sous atmosphère contenant 5% de CO₂. Des cultures pures de 15 mélanocytes sont obtenues au bout de 2 à 3 semaines.

2. Temps de contact, irradiation des cellules et préparation des lames

20

Toutes les compositions testées sont solubilisées dans du DMSO aux concentrations maximales permises. Des essais préliminaires sont effectués pour déterminer les concentrations subtoxiques sur les kératinocytes. La concentration finale en DMSO est toujours inférieure à 2%.

25

Les mélanocytes sont mis en contact avec le produit pendant 30 min à 37°C, puis ils sont irradiés par des UVA. Les irradiations UVA sont générées par un irradiateur UV Bio-Sun (Vilbert Lourmat, Marne la Vallée). Cet appareil est équipé de lampes monochromatiques qui émettent à une longueur d'onde de 312 nm et/ou 365 nm. Les lampes délivrent une énergie calculée, à l'aide d'un radiomètre de type RMW-365/312. Les énergies délivrées sont de 30 0.8 J/cm² pour les UVA. Le test dit « des comètes » est réalisé immédiatement après l'exposition. Deux types de contrôles sont inclus dans ces expériences :

- Contrôles négatifs : mélanocytes non traités mais irradiés par les UVA; mélanocytes traités pendant 30 min avec la composition testée, mais non irradiés.

35

- Contrôle positif : mélanocytes non traités mais irradiés.

Après un traitement avec un mélange trypsine/EDTA (0,05 % / 0,02 %) pendant 2 à 3 minutes, les cultures sont récupérées par centrifugation et placées dans du tampon PBS sans Ca++ et sans Mg++ (Sigma). Suivant une seconde centrifugation, les cellules ($4,5\text{--}5,0 \times 10^4$ cellules) sont placées en 5 suspension dans 0,5 % agarose Low Melting Point, LMP (Sigma). Le mélange est directement déposé sur des lames de microscope recouvertes d'une pré-couche d'agarose (1,6 %) séchée, pendant une nuit à température ambiante et fraîchement précoatée avec une seconde couche d'agarose (0,8 %).

10

3. Le test des comètes (technique des lames sèches) et traitement enzymatique

Le protocole du test des comètes est celui de De Méo et Coll [1] en 15 incorporant la technique des « lames sèches » [2]. Les lames sont placées après les irradiations dans un bain de lyse (2,5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris-HCl pH 10, 1 % de sodium sarcosinate, 1 % de triton X-100 et 10 % de DMSO). La lyse cellulaire s'effectue à 4 °C pendant 60 minutes, suivie par la dénaturation de l'ADN à température ambiante pendant 20 min dans une 20 solution fortement alcaline (1 mM Na₂EDTA et 300 mM NaOH, pH > 13,0). Après une électrophorèse (25V, 300 mA) pendant 20 min, les lames sont neutralisées par le tampon Tris-HCl (0,4 M; pH 7,4) et déshydratées dans de l'éthanol ou du méthanol absolu.

25

4. Observation microscopique et analyse d'image

Les lames sont colorées par une solution de bromure d'éthidium (75 µl de 2 µg/ml) et observées à l'aide d'un microscope à fluorescence BH2-RFL (Olympus, Japon) équipé d'un filtre dichroïque 20BG-W (excitation : 515-30 560 nm ; émission : 590 nm) et d'un objectif Apo D-Plan 20x. L'analyse d'image s'effectue avec une caméra CCD monochrome haute sensibilité (Cohu 4912-5000) couplée à une carte d'acquisition Matrox IP-8. L'ensemble est piloté par le logiciel Fenestra Komet (Kinetic Imaging, Liverpool, RU, version 3.1).

35

Un total de 100 cellules par échantillon (50 cellules/lame) est analysé. Le paramètre utilisé est "Tail DNA", qui est défini comme le

pourcentage d'ADN dans la queue de la « comète ». Pour chaque série d'expériences, un contrôle négatif (cellules non irradiées) et un contrôle positif (cellules irradiées sans composition testée) sont inclus.

5

5. Analyse statistique

Des régressions non linéaires basées sur une fonction χ^2 sont calculées directement à partir des fréquences de distribution des TM (« tail moment ») pour chaque échantillon. En effet, Bauer et Coll [3] ont récemment montré que ces distributions suivaient une fonction χ^2 . Cette méthode est basée sur une analyse de la distribution selon une loi de χ^2 .

Le facteur n (aussi appelé χ^2 TM) qui représente le degré de liberté de la fonction est directement corrélé avec le degré de lésion (TM moyen). Le facteur n varie de 2 (cellules intactes) à 15 (cellules extrêmement lésées avec une fréquence de distribution gaussienne).

Le degré de liberté (n) peut être utilisé comme un indicateur de lésion de l'ADN. Les fréquences de distribution sont calculées avec le Tableur Excel 97 (Microsoft) et les régressions non linéaires sont calculées avec le logiciel Table Curve 2D (Jandel Scientific, version 5.0)

25 **6. Références**

- [1]. De Méo M, M. Laget M, Castegnaro M, Duménil G. Genotoxic activity of potassium permanganate acidic sodium. Mutation Res. 1991; 260; 295-306.
- [2]. Klaude M, Ericksson S, Nygren J, Annstrom G. The comet assay: mechanism and technical consideration. Mutation Res. 1996; 363; 89-96.
- [3]. Bauer E, Recknagel RD, Fiedler U, Wollweber L, Bock C, Greulich KO. The distribution of the tail moments in single cell electrophoresis (comet assay) obeys a chi-square (χ^2) not a gaussian distribution. Mutation Res. 1998; 398: 101-110.

7. Degré de protection des compositions testées

Les résultats selon le tableau ci-dessous sont obtenus.

| Composition | OTM- χ^2 | Degré de protection (%) |
|----------------------------|---------------|-------------------------|
| NI | 2.08 ± 0.02 | - |
| NI + ATP (4 mM) | 2.08 ± 0.02 | - |
| NI + Citru (4 mM) | 2.06 ± 0.02 | - |
| NI+ATP (4 mM)+Citr (4 mM) | 2.07 ± 0.02 | - |
| UVA | 9.16 ± 0.32 | 0.00 % |
| UVA + ATP (4 mM) | 6.31 ± 0.38 | 14.6% (NS) |
| UVA + Citru (4 mM) | 2.22 ± 0.20 | 67.7 % |
| UVA+ATP (4 mM)+Citr (4 mM) | 2.11 ± 0.04 | 99.6 % |

5

OTM- χ^2 = Tail Moment χ^2 : Degré de liberté de la fonction calculé par régression non linéaire de la fréquence normalisée de distribution des OTM. La probabilité des modèles dans tous les cas est de P < 0.001.

10 NI : mélanocytes non irradiés
 NI + ATP : mélanocytes non irradiés et prétraités par de l'ATP (4 mM) pendant 30 min
 NI + Citru : mélanocytes non irradiés et prétraités par de la Citrullyl-arginine (4 mM) pendant 30 min

15 UVA : mélanocytes irradiés par des UVA (0,8 J/cm²)
 UVA + ATP : mélanocytes irradiés par des rayonnements UVA (0,8 J/cm²) et prétraités par de l'ATP (4 mM) pendant 30 min
 UVA + Citru : mélanocytes irradiés par des rayonnements UVA (0,8 J/cm²) et prétraités par de la Citrullyl-arginine (4 mM) pendant 30 min

20 NS : différence non significative entre UVA + Citru et UVA + ATP.
 Le degré de protection de la Citrullyl-arginine est très supérieur à celui de l'ATP. La synergie entre la molécule d'ATP et le peptide est très nette.

25

Les exemples qui suivent illustrent l'invention sans en limiter pour autant la portée.

EXEMPLES**Exemple 1: Crème anti rides**

5

Stéarate de sucre 0,5-6 %

Distéarate de sucre 0,5-6 %

ATP disodique 0,01-0,05 %**Diguanosine tétraphosphate (Gp4G)** 0,5 - 1%

10 Triglycéride caprylique/caprique 3-15 %

Triglycéride caprylique/caprique/succinique 3-15 %

Céramides 3 0,05-1 %

Palmitate d'ascorbyle 0,01-0,1 %

Acétate de tocophéryle 0,05-1 %

15 Urée 0,5-2 %

Chlorure de calcium 0,05-0,5 %

Chlorure de magnésium 0,05-0,5 %

 β -alanyl-L-histidine (Carnosine) 0,5 – 1%**Gly-His-Lys (peptide powder)** 10 - 5 ppm

20 Sérolne 0,2-2 %

Glycérine 0,5-3 %

Acide citrique 0,1-0,5 %

Citrate trisodique 0,5-1,5 %

Palmitate de vitamine A 0,1-0,5 %

25 Phospholipides 0,1-0,4 %

Superoxyde dismutase 0,5-2 %

Hyaluronate de sodium 0,5-3 %

Sorbate de potassium 0,2-0,5 %

Gomme sclerotium 0,1-0,5 %

30 Gomme xanthane 0,1-0,5 %

Eau qsp.100 %

Parfum qs.

Conservateurs qs.

Exemple 2: Lait hydratant

5

| | | |
|----|-----------------------------------|-----------|
| | Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 0,5 - 1% |
| | Phospholipides | 3 % |
| | Céramide 3 | 0,1 % |
| | Palmitate de vitamine A | 0,15 % |
| 10 | Stéareth-20 | 0,2 % |
| | Stéareth-2 | 1 à 3 % |
| | Methyl paraben | 0,25 % |
| | Chlorure de calcium | 0,01 % |
| | Chlorure de magnésium | 0,01 % |
| 15 | Eau | qsp.100 % |
| | Alcool cétostéarylique | 2 à 4 % |
| | Myristate de myristyle | 2 à 4 % |
| | Myristate d'isopropyle | 4 % |
| | Glycérine | 1 % |
| 20 | <i>L-Citrullyl-L-Arginine</i> | 0,1 à 2 % |
| | Dimethicone | 0,5 % |
| | Alcools lanoliniques | 0,5 % |
| | Propyl paraben | 0,25 % |

25

Exemple 3: Crème hydratante

| | | |
|----|-----------------------|-------------|
| | ATP disodique | 0,01-0,05 % |
| | Oléate de sorbitane | 3,5 % |
| 30 | Polysorbate 80 | 2 à 4 % |
| | Huile de germe de blé | 3 % |

| | |
|--|------------------|
| Huile d'amandes douces | 5 % |
| Myristate d'isopropyle | 12 % |
| Phospholipides | 0,5 % |
| Céramides 3 | 0,1 % |
| 5 Polyacrylamide & C ₁₄₋₁₅ isoparaffine & laureth-7 | 2 à 3,5 % |
| Palmitate de vitamine A | 0,1 % |
| Tocopherol | 0,05 % |
| PCANa | 0,5 % |
| Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 0,5 - 1% |
| 10 Hyaluronate de sodium | 0,1 % |
| Eau | qsp.100 % |
| L-Citrullyl-L-Arginine | 0,1 à 2 % |
| Conservateurs | qsp |
| Parfum | qsp |

15

Exemple 4 : Crème bronzante solaire protectrice

| | |
|---|--------------------|
| ATP disodique | 0,01-0,05 % |
| 20 Méthoxycinnamate d'octyle (Neo Heliopan AV) | 6,00 % |
| Butyl-méthoxydibenzoylméthane (Parsol 1789) | 3,00 % |
| Octyl-triazone | 2,00 % |
| 25 (Uvinul T150) | |
| Di-C12-13 Alkyl Tartrate (Cosmacol ETI) | 8,00 % |
| Alcool cétylique | 0,50 % |
| Diméthicone | 0,50 % |
| 30 Coco caprylate/caprate | 8,00 % |
| PVP/Copolymère Eicosène | 2,00 % |

| | | |
|----|---|--------------------------|
| | Cétyl-phosphate de potassium | 2,00 % |
| | Méthyl- et propyl-paraben | 0,25 % |
| | Disodium EDTA | 0,10 % |
| | BHT 0,05 % | |
| 5 | Carbomer | 10,00 % |
| | Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 0,5 - 1% |
| | <i>Alanyl-L-histidine</i> (Carnosine) | 0,8 - 1% |
| | Propylène glycol | 5,00 % |
| | Hydroxyde de potassium | 4,05 % |
| 10 | Acide phénylbenzimidazole sulfonique (Eusolex 232) | 2,00 % |
| | Acétate de tocophéryle | 2,50 % |
| | Panthénol | 1,00 % |
| | MSH (Ala-His-Lys-Phe-Tyr) | 0.0001 - 0.00001% |
| 15 | Photolyase | 0.1% |
| | Eau | qsp. 100 % |
| | Parfum | qs |

20 Exemple 5: Crème solaire photo-protectrice et réparatrice

| | | |
|----|--|-------------|
| | ATP disodique | 0,01-0,05 % |
| | Ethoxy-diglycol et concombre | 8,00 % |
| | Di-C12-13 Alkyl Tartrate (Cosmacol ETI) | 5,00 % |
| 25 | Méthoxycinnamate d'octyle (Parsol MCX) | 5,00 % |
| | Butyl-méthoxydibenzoylméthane (Parsol 1789) | 2,00 % |
| | Diméthicone triméthylsiloxy silicate | 3,00 % |
| 30 | Acétate de tocophéryle | 0,20 % |
| | Distéarate de sucre | 5,00 % |

| | |
|--|--------------------------|
| Hexylene Glycol | 5,00 % |
| Butyl-, Méthyl-, Propyl-paraben + Phénoxyéthanol | 0,40 % |
| <i>L-Citrullyl-L-Arginine</i> | 0,1 à 2 % |
| Eau | qsp.100 % |
| 5 Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 1 – 1.5 % |
| MSH (Ala-His-Lys-Phe-Tyr) | 0.0001 - 0.00001% |
| <i>Endonucléase</i> | 0.2% |
| Alanyl-L-histidine (Carnosine) | 0.5 – 1% |
| Parfum qs. | |

10

Exemple 6 : Lait apaisant photo-réparateur

| | |
|--|-----------------|
| Huile minérale | 2,00 % |
| Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 0.5 - 1% |
| 15 Di-C12-13 Alkyl Tartrate | 4,00 % |
| (Cosmacol ETI) | |
| Stéarate d'octyle | 3,00 % |
| Isoamyl-p-méthoxycinnamate | 5,00 % |
| (Parsol MCX) | |
| 20 Butyl-méthoxydibenzoylméthane | 1,00 % |
| (Parsol 1789) | |
| Diisostéarate de polyglycéryl-3 | 4,00 % |
| PEG-20 Laurate de glycéryle | 1,00 % |
| Carbomer | 0,4 % |
| 25 Propylène glycol | 2,00 % |
| Conservateurs | 0,50 % |
| Gomme de xanthane | 0,30 % |
| Triéthanolamine | 0,85 % |
| Acide phénylbenzimidazole-sulfonique | 2,5 % |
| 30 (Neo Heliopan Hydro) | |

| | |
|---------------------------------------|-------------------|
| Acétyl-tyrosine | 2,00 % |
| Alanyl-L-histidine (Carnosine) | 0,5 – 1% |
| Gly-His-Lys (peptide powder) | 10 - 5 ppm |
| Eau qsp.100% | |
| 5 Parfum | qs. |

Exemple 7 : Crème visage désensibilisante

| | | |
|----|--|--------------------|
| 10 | Triglycéride caprylique/caprique/succinique | 1 à 10 % |
| | Palmitate d'ascorbyle | 0,01 à 0,1 % |
| | Stéarate de glycéryle | 1 à 5 % |
| | Acide stéarique | 1 à 5 % |
| | Acétate de tocophérol | 0,1 à 1 % |
| 15 | Triglycéride caprylique/caprique | 1 à 15 % |
| | ATP disodique | 0,01-0,05 % |
| | Pyridoxine | 0,01 à 0,05 % |
| | Acide citrique | 0,1 à 0,5 % |
| | Gluconate de zinc | 0,1 à 1 % |
| 20 | Citrate trisodique | 1 à 2,5 % |
| | L-Citrullyl-L-Arginine | 0,1 à 2 % |
| | Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 0,5 - 1% |
| | Glycérine | 1 à 4 % |
| | Palmitate de vitamine A | 0,01 à 1 % |
| 25 | d-Panthénol | 0,1 à 1 % |
| | Rhamnose | 0,1 à 1 % |
| | L-Fucose | 0,01 à 1 % |
| | Lactoferrine / Lactoperoxydase | 0,01 à 1 % |
| | Superoxide dismutase | 0,01 à 1 % |
| 30 | Polyacrylamide / C ₁₃₋₁₄ isoparaffine / Laureth-7 | 0,2 à 1 % |
| | Eau | qsp.100 % |

Exemple 8 : Lait corporel apaisant

| | | |
|----|---------------------------------------|--------------------|
| | Polymère d'acide acrylique | 0,1 - 1,5 % |
| 5 | Acide glycyrrhétinique | 0,1 - 1 % |
| | Triéthanolamine | 0,1 - 2 % |
| | Butylène glycol | 0,5 - 4 % |
| | ATP disodique | 0,01-0,05 % |
| | Palmitate d'ascorbyle | 0,01 à 0,1 % |
| 10 | Acétate de tocophérol | 0,1 à 1 % |
| | Pyridoxine | 0,01 à 0,05 % |
| | Acide citrique | 0,1 à 0,5 % |
| | Gluconate de zinc | 0,1 à 1 % |
| | Citrate trisodique | 1 à 2,5 % |
| 15 | L-Arginine | 0,1 à 2 % |
| | Palmitate de vitamine A | 0,01 à 1 % |
| | d-Panthénol | 0,1 à 1 % |
| | L-Fucose | 0,01 à 1 % |
| | Lactoferrine / Lactoperoxydase | 0,01 à 1 % |
| 20 | Alanyl-L-histidine (Carnosine) | 0,5 – 1% |
| | R-Gly-GIn-Pro-Arg | 15 - 20 ppm |
| | Supéroxyde dismutase | 0,01 à 1 % |
| | Sorbate de potassium | 0,1 à 0,6 % |
| | Conservateurs | qs. |
| 25 | Eau | qsp.100 % |

Exemple 9 : Crème apaisante peau grasse

| | | |
|----|-------------------------|-----------|
| 30 | Propylène glycol | 1 - 8 % |
| | Monolaurate de sorbitan | 0,5 - 5 % |

| | | |
|-----------|--|--------------------|
| | Diméthicone copolyol | 0,1 - 5 % |
| | Acide salicylique | 0,1 - 0,5 % |
| | Disodium EDTA | 0,05 - 0,5 % |
| | Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 0,5 - 1% |
| 5 | ATP disodique | 0,01-0,05 % |
| | Gluconate de zinc | 0,1 - 1 % |
| | Palmitate d'ascorbyle | 0,01 à 0,1 % |
| | Acétate de tocophérol | 0,1 à 1 % |
| | Pyridoxine | 0,01 à 0,05 % |
| 10 | Acide citrique | 0,1 - 0,5 % |
| | Chlorure de sodium | 0,1 - 1,5 % |
| | Citrate trisodique | 1 à 2,5 % |
| | L-Arginine | 0,1 à 2 % |
| | Palmitate de vitamine A | 0,01 à 1 % |
| 15 | d-Panthénol | 0,1 à 1 % |
| | Rhamnose | 0,1 à 1 % |
| | L-Fucose | 0,01 à 1 % |
| | Lactoferrine / Lactoperoxydase | 0,01 à 1 % |
| | Gly-His-Lys (peptide powder) | 10 - 5 ppm |
| 20 | Superoxyde dismutase | 0,01 à 1 % |
| | Conservateurs | qs. |
| | Eau | qsp.100 % |

25 Exemple 10 : Lotion démaquillante

| | | |
|-----------|--|------------------|
| | Diguanosine tétraphosphate (Gp4G) | 1 - 2% |
| | ATP disodique | 0,1-0,5 % |
| | Citrate trisodique | 1 à 2,5 % |
| 30 | Glycérine | 0,5-3 % |
| | Hexylene glycol | 4-5% |

30

| | |
|--|-----------|
| d-Panthénol | 0,1 à 1 % |
| <i>Alanyl-L-histidine</i> (Carnosine) | 0.5 – 1% |
| Conservateurs (Méthyl parabènne et phenoxyéthanol) | qs. |
| Eau | qsp.100 % |

5

DESCRIPTION DE SEQUENCES

SEQ ID n° 1 : H-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ (11 AA)

5 **SEQ ID n°2 :** H-Tyr-Pro-Ser-Lys-Pro-Asp-Asn-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Pro-Ala-Glu-Asp-Met-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (36 AA)

10 **SEQ ID n°3 :** H-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH (14 AA)

15 **SEQ ID n°4 :** pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH (13 AA)

20 **SEQ ID n°5 :** H-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Val-Lys-Asn-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (37 AA)

25 **SEQ ID n°6 :** H-Ala-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Met-Val-Lys-Ser-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH₂ (37 AA)

30 **SEQ ID n°7 :** H-Val-Pro-Leu-Pro-Ala-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Thr-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (27 AA)

35 **SEQ ID n°8 :** H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH (9 AA)

40 **SEQ ID n°9 :** H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu-OH (31 AA)

45 **SEQ ID n°10 :** H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (5 AA)

50 **SEQ ID n°11 :** H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (5 AA)

55 **SEQ ID n°12 :** Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂ (13 AA)

60 **SEQ ID n°13 :** H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Val-Lys-Val-Tyr-Pro-Asn-Gly-Ala-Glu-Asp-Glu-Ser-Ala-Glu-Ala-Phe-Pro-Leu-Glu-Phe-OH (39 AA)

65 **SEQ ID n°14 :** H-Ser-Arg-Thr-His-Arg-His-Ser-Met-Glu-Ile-Arg-Thr-Pro-Asp-Ile-Asn-Pro-Ala-Trp-Tyr-Ala-Ser-Arg-Gly-Ile-Arg-Pro-Val-Gly-Arg-Phe-NH₂ (31 AA)

REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique comprenant un système bioactif associant, d'une part une forme stable en solution aqueuse d'ATP (adénosine-tri-phosphate) avec éventuellement un précurseur d'ATP, par exemple Gp₄G (diguanosine tétraphosphate), ou Ap₄A (diadénosine tétraphosphate), et d'autre part au moins un peptide biomimétique comprenant au plus six acides aminés, mimant un polypeptide cutané ou une protéine cutanée, ou une biomolécule agoniste ou antagoniste audit polypeptide ou à ladite protéine.
10
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que la forme stable est un sel de sodium d'ATP, par exemple un sel disodique.
3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est fonctionnellement actif dans une biosynthèse d'une molécule de structure de la peau, ou d'une enzyme présente dans la peau.
15
4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est fonctionnellement actif dans le transfert d'informations dans la peau, et est par exemple une fraction biologiquement active d'une hormone ou cytokine présente dans la peau.
20
5. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est choisi dans le groupe constitué par l'histidine-β-alanyl, le peptide R-Gly-Gln-Pro-Arg, le peptide Tyr-Arg, le peptide R-Lys-Thr-Thr-Lys-Ser, le N-acetyl Tyr-Arg-R, le peptide Lys-Thr-Thr-Lys-Ser, le peptide Ala-Arg-His-Leu-Phe-Tyr (ou l'alpha MSH), le peptide Gly-Gln-Asp-Pro-Val-Lys (ou l'elafine) ; R étant un acide aminé quelconque.
25
- 30
6. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est un dipeptide.
7. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que le dipeptide répond à la formule Arg-R ou His-R, dans laquelle R est un acide aminé quelconque.
35

8. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que le dipeptide est sous forme oligomère, de formule (R-R)_n, avec 1<n<3.

9. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce que le
5 dipeptide répond à la formule (Arg-Lys)_n, avec 1<n<3.

10. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est un tripeptide.

11. Composition selon la revendication 10, caractérisée en ce que le tripeptide est Gly-His-Lys ou Gly-Glu-Pro.

12. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est un tetrapeptide.

13. Composition selon la revendication 12, caractérisée en ce que le tetrapeptide est Leu-Pro-Thr-Val, ou Lys-Thr-Ser-R, ou Gly-Glu-Pro-R ; R étant un acide aminé quelconque.

14. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est un pentapeptide, par exemple Val-Ala-Lys-Leu-R ; R étant un acide aminé quelconque.

15. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est un hexapeptide.

16. Composition selon la revendication 15, caractérisée en ce que le peptide biomimétique est Ala-R₁-R₂-R₃-Phe-Try, avec R₁, R₂, R₃ égal chacun à un acide aminé quelconque.

17. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend un acide aminé, par exemple choisi dans le groupe constitué par la créatine, la decarboxycarnosine, une glutamine, par exemple le N-acetylglutamine.

18. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend une protéine, par exemple choisie dans le groupe constitué par la superoxyde dismutase, les endonucléases, la photolyase, et les cytokines de lait.

5

19. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le système bioactif représente au plus 10 %, et préférentiellement entre 1 % et 10^{-7} % en poids de ladite composition.

10

20. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un principe actif cosmétique, potentialisé par le système bioactif.

15

21. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle est sous forme d'une émulsion eau dans huile ou huile dans eau, le système bioactif étant compris dans la phase aqueuse.

20

22. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que dans le système bioactif, l'ATP et éventuellement le précurseur d'ATP représentent au plus 10 %, et préférentiellement entre 0,01 % et 5 % en poids.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
22 juillet 2004 (22.07.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/060393 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **A61K 7/48**

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/003883

(22) Date de dépôt international :
23 décembre 2003 (23.12.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/16871 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR
02/16872 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR
02/16873 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR
02/16874 30 décembre 2002 (30.12.2002) FR

(84) États désignés (*regional*) : brevet ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant et

(72) Inventeur : THOREL, Jean-Noël [FR/FR]; 3, rue la Rochelle, F-75014 Paris (FR).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : REDZINIAK, Gérard [FR/FR]; 38, rue Prosper Legouté, F-92160 Antony (FR).

(88) Date de publication du rapport de recherche internationale: 16 septembre 2004

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(74) Mandataire : CABINET GERMAIN & MAUREAU; BP 6153, F-69466 Lyon Cedex 06 (FR).

(54) Title: CUTANEOUS METABOLIC BIO-ACTIVATOR

(54) Titre : ACTIVATEUR CUTANE ASSOCIANT DE L'ATP AVEC D'AUTRES BIO-MOLECULES A EFFET METABOLIQUE.

WO 2004/060393 A3

(57) Abstract: The invention relates to a cosmetic composition comprising a bio-active system which combines (i) a stable form in aqueous solution of ATP (adenosine-tri-phosphate) with optionally an ATP precursor, e.g. Gp₄G (diguanosine tetraphosphate), or Ap₄A (diadenosine tetraphosphate), and (ii) at least one biomimetic peptide comprising at most six amino acids, mimicking a cutaneous polypeptide or a cutaneous protein, or a biomolecule which is agonist or antagonist in relation to the aforementioned polypeptide or protein. According to the invention, the composition takes the form of a water-in-oil or oil-in-water emulsion, the bio-active system being included in the aqueous phase.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une composition cosmétique comprenant un système bioactif associant, d'une part une forme stable en solution aqueuse d'ATP (adénosine-tri-phosphate) avec éventuellement un précurseur d'ATP, par exemple Gp₄G (diguanosine tétraphosphate), ou Ap₄A (diadénosine tétraphosphate), et d'autre part au moins un peptide biomimétique comprenant au plus six acides aminés, mimant un polypeptide cutané ou une protéine cutanée, ou une biomolécule agoniste ou antagoniste audit polypeptide ou à ladite protéine. Selon l'invention la composition est sous forme d'une émulsion eau dans huile ou huile dans eau, le système bioactif étant compris dans la phase aqueuse.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03883

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|---|
| X | DE 41 39 639 A (SCHUELKE & MAYR GMBH) 3 June 1993 (1993-06-03) claims 1,14,29-31,33 page 8, lines 3-25 page 16, line 35 - page 18, line 19; example 5 page 19, line 7; example 6 | 1,3,4,6, 7,12,14, 15,17, 19-22 |
| Y | | 11 |
| X | US 4 844 884 A (TUR VLADIMIR) 4 July 1989 (1989-07-04) claims 3,4,17,18,21,29 | 1-3, 17-22 |
| X | US 5 885 974 A (DANIELOV MICHAEL M) 23 March 1999 (1999-03-23) claims 1-3,10 page 24, line 20 - page 25, line 50 | 1,18-22 |
| | | -/- |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

13 July 2004

Date of mailing of the International search report

06/08/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Grillenberger, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03883

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-------------------------------------|
| P, X | ANONYMOUS: "Skin energy" INTERNET ARTICLE, 'Online! XP002286181 Cognis Retrieved from the Internet: URL: http://www.cognis.com/carechemicals/Beauty/beauty_popup_gen1_SkinEnergy.html > 'retrieved on 2004-06-08! abstract | 1,3-5, 17-22 |
| Y | FR 2 783 169 A (SEDERMA SA) 17 March 2000 (2000-03-17) claims 1,2,4,8,11-13 examples 1-6 | 1,3-5, 19-22 |
| Y | WO 02/085927 A (KIM SOO-YOUL ; SOHN JOON-HONG (KR)) 31 October 2002 (2002-10-31) claims 4-8 figures 1,2 | 1,3-5, 19-22 |
| Y | FR 2 668 365 A (SEDERMA SA) 30 April 1992 (1992-04-30) claims 1,5-10,15,17 | 1,3,4,6, 10-12, 14,19-22 |
| Y | FR 2 546 164 A (CENTRE NAT RECH SCIENT) 23 November 1984 (1984-11-23) claims 1,6,8-11,13 examples 1-3 | 1,3,4, 10,12, 14,15, 19-22 |
| Y | FR 2 706 300 A (DIOR CHRISTIAN PARFUMS) 23 December 1994 (1994-12-23) claims 1-15 examples 1-5 | 1,3,4,6, 15,19-22 |
| Y | MATSURA I ET AL: "Skin roughness-treating cosmetics containing carnosines and mucopolysaccharides, peptide and/or lecithin" 24 August 1992 (1992-08-24), CHEMICAL ABSTRACTS + INDEXES, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS, US, PAGE(S) 436 , XP002966006 ISSN: 0009-2258 abstract | 1,3,4,6, 17,19-22 |
| Y | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 005, no. 194 (C-082), 10 December 1981 (1981-12-10) & JP 56 115707 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD), 11 September 1981 (1981-09-11) abstract | 1,3,4, 10,12, 19-22 |

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

T/FR 03/03883

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| X | EP 0 707 844 A (CALIFORNIA SUNCARE INC) 24 April 1996 (1996-04-24) claims 1,5,17-19,22 page 5, line 36 – page 6, line 19 page 7, lines 17-31 page 7, line 52 – page 8, line 4 pages 9-11; examples 1-4 | 1,17,18, 20-22 |
| Y | US 5 254 331 A (MAUSNER JACK) 19 October 1993 (1993-10-19) claims 1,6 column 2, lines 42-49 column 6, line 55 – column 7, line 19 column 7, lines 20-45 | 18 |
| Y | EP 0 571 198 A (UNILEVER PLC ; UNILEVER NV (NL)) 24 November 1993 (1993-11-24) claims 1,2,13 exemples | 1,3,4,6, 19-22 |
| Y | DE 100 32 964 A (BEIERSDORF AG) 24 January 2002 (2002-01-24) claims 1-5 exemples | 1,17, 19-22 |
| Y | US 5 958 976 A (MARENUS KENNETH D ET AL) 28 September 1999 (1999-09-28) claims 1,4 example 1 | 1,17, 19-22 |
| Y | DD 268 157 A (BERLIN KOSMETIK VEB) 24 May 1989 (1989-05-24) claim 1 page 3; examples 5,6 | 1,18-22 |
| Y | DATABASE WPI Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2003-451671 XP002251028 NN: "Superoxide dismutase-like substances useful in skin cosmetics for preventing aging and wrinkles of skin and improving fairness of skin, comprises extract of Ehretia belonging to Boraginaceae, as active ingredient" & JP 2002 363087 A (MARUZEN SEIYAKU KK) 18 December 2002 (2002-12-18) abstract | 1 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 03/03883

| Patent document cited in search report | | Publication date | | Patent family member(s) | | Publication date |
|--|---|------------------|--|--|--|--|
| DE 4139639 | A | 03-06-1993 | DE AT WO DE EP JP | 4139639 A1 157880 T 9310802 A1 59208894 D1 0552516 A1 6506000 T | | 03-06-1993 15-09-1997 10-06-1993 16-10-1997 28-07-1993 07-07-1994 |
| US 4844884 | A | 04-07-1989 | CH AU AU CA DE ES FR GB IT | 671514 A5 600535 B2 8181087 A 1293930 C 3732154 A1 2008256 A6 2607699 A1 2198042 A , B 1213915 B | | 15-09-1989 16-08-1990 09-06-1988 07-01-1992 30-06-1988 16-07-1989 10-06-1988 08-06-1988 05-01-1990 |
| US 5885974 | A | 23-03-1999 | AU WO US | 4510896 A 9617621 A1 6303588 B1 | | 26-06-1996 13-06-1996 16-10-2001 |
| FR 2783169 | A | 17-03-2000 | FR AU EP WO JP US | 2783169 A1 5627999 A 1112057 A1 0015188 A1 2002524487 T 6620419 B1 | | 17-03-2000 03-04-2000 04-07-2001 23-03-2000 06-08-2002 16-09-2003 |
| WO 02085927 | A | 31-10-2002 | KR WO US | 2002081955 A 02085927 A1 2002192780 A1 | | 30-10-2002 31-10-2002 19-12-2002 |
| FR 2668365 | A | 30-04-1992 | FR | 2668365 A1 | | 30-04-1992 |
| FR 2546164 | A | 23-11-1984 | FR AT DE EP JP US | 2546164 A1 24917 T 3462039 D1 0126009 A1 59219257 A 4665053 A | | 23-11-1984 15-01-1987 19-02-1987 21-11-1984 10-12-1984 12-05-1987 |
| FR 2706300 | A | 23-12-1994 | FR DE DE EP ES WO JP | 2706300 A1 69402861 D1 69402861 T2 0703776 A1 2103596 T3 9500115 A1 9504506 T | | 23-12-1994 28-05-1997 06-11-1997 03-04-1996 16-09-1997 05-01-1995 06-05-1997 |
| JP 56115707 | A | 11-09-1981 | | NONE | | |
| EP 0707844 | A | 24-04-1996 | CA EP | 2148202 A1 0707844 A2 | | 21-04-1996 24-04-1996 |
| US 5254331 | A | 19-10-1993 | | NONE | | |
| EP 0571198 | A | 24-11-1993 | AT AU | 150286 T 3870493 A | | 15-04-1997 25-11-1993 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 03/03883

| Patent document cited in search report | Publication date | | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|------------|--|--|
| EP 0571198 | A | | BR 9302025 A CA 2096507 A1 DE 69308928 D1 DE 69308928 T2 EP 0571198 A1 ES 2101229 T3 JP 2771422 B2 JP 6032726 A US 5559092 A | 30-11-1993 21-11-1993 24-04-1997 10-07-1997 24-11-1993 01-07-1997 02-07-1998 08-02-1994 24-09-1996 |
| DE 10032964 | A | 24-01-2002 | DE 10032964 A1 WO 0202075 A1 EP 1296642 A1 JP 2004501953 T US 2004029969 A1 | 24-01-2002 10-01-2002 02-04-2003 22-01-2004 12-02-2004 |
| US 5958976 | A | 28-09-1999 | AU 743896 B2 AU 9498498 A CA 2272880 A1 EP 0957887 A2 JP 2001505590 T WO 9913819 A2 | 07-02-2002 05-04-1999 25-03-1999 24-11-1999 24-04-2001 25-03-1999 |
| DD 268157 | A | 24-05-1989 | DD 268157 A1 | 24-05-1989 |
| JP 2002363087 | A | 18-12-2002 | NONE | |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/03883

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K7/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|---|
| X | DE 41 39 639 A (SCHÜELKE & MAYR GMBH) 3 juin 1993 (1993-06-03) revendications 1,14,29-31,33 page 8, ligne 3-25 page 16, ligne 35 – page 18, ligne 19; exemple 5 page 19, ligne 7; exemple 6 | 1,3,4,6, 7,12,14, 15,17, 19-22 |
| Y | US 4 844 884 A (TUR VLADIMIR) 4 juillet 1989 (1989-07-04) revendications 3,4,17,18,21,29 | 11 |
| X | US 5 885 974 A (DANIELOV MICHAEL M) 23 mars 1999 (1999-03-23) revendications 1-3,10 page 24, ligne 20 – page 25, ligne 50 | 1-3, 17-22 |
| X | | 1,18-22 |
| | | -/- |

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

13 juillet 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

06/08/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Grillenberger, S

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 03/03883

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | |
|---|---|-------------------------------------|
| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
| P,X | ANONYMOUS: "Skin energy" INTERNET ARTICLE, 'Online! XP002286181 Cognis Extrait de l'Internet: URL: http://www.cognis.com/carechemicals/Beauty/beauty_popup_gen1_SkinEnergy.html > 'extrait le 2004-06-08! abrégé | 1,3-5, 17-22 |
| Y | FR 2 783 169 A (SEDERMA SA) 17 mars 2000 (2000-03-17) revendications 1,2,4,8,11-13 exemples 1-6 | 1,3-5, 19-22 |
| Y | WO 02/085927 A (KIM SOO-YOUL ; SOHN JOON-HONG (KR)) 31 octobre 2002 (2002-10-31) revendications 4-8 figures 1,2 | 1,3-5, 19-22 |
| Y | FR 2 668 365 A (SEDERMA SA) 30 avril 1992 (1992-04-30) revendications 1,5-10,15,17 | 1,3,4,6, 10-12, 14,19-22 |
| Y | FR 2 546 164 A (CENTRE NAT RECH SCIENT) 23 novembre 1984 (1984-11-23) revendications 1,6,8-11,13 exemples 1-3 | 1,3,4, 10,12, 14,15, 19-22 |
| Y | FR 2 706 300 A (DIOR CHRISTIAN PARFUMS) 23 décembre 1994 (1994-12-23) revendications 1-15 exemples 1-5 | 1,3,4,6, 15,19-22 |
| Y | MATSURA I ET AL: "Skin roughness-treating cosmetics containing carnosines and mucopolysaccharides, peptide and/or lecithin" 24 août 1992 (1992-08-24), CHEMICAL ABSTRACTS + INDEXES, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. COLUMBUS, US, PAGE(S) 436 , XP002966006 ISSN: 0009-2258 abrégé | 1,3,4,6, 17,19-22 |
| Y | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 005, no. 194 (C-082), 10 décembre 1981 (1981-12-10) & JP 56 115707 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD), 11 septembre 1981 (1981-09-11) abrégé | 1,3,4, 10,12, 19-22 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document de Recherche Internationale No

PCT/FR 03/03883

C(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| X | EP 0 707 844 A (CALIFORNIA SUNCARE INC) 24 avril 1996 (1996-04-24) revendications 1,5,17-19,22 page 5, ligne 36 – page 6, ligne 19 page 7, ligne 17-31 page 7, ligne 52 – page 8, ligne 4 pages 9-11; exemples 1-4 | 1,17,18, 20-22 |
| Y | | 18 |
| X | US 5 254 331 A (MAUSNER JACK) 19 octobre 1993 (1993-10-19) revendications 1,6 colonne 2, ligne 42-49 colonne 6, ligne 55 – colonne 7, ligne 19 colonne 7, ligne 20-45 | 1,3,4, 17-22 |
| Y | EP 0 571 198 A (UNILEVER PLC ; UNILEVER NV (NL)) 24 novembre 1993 (1993-11-24) revendications 1,2,13 exemples | 1,3,4,6, 19-22 |
| Y | DE 100 32 964 A (BEIERSDORF AG) 24 janvier 2002 (2002-01-24) revendications 1-5 exemples | 1,17, 19-22 |
| Y | US 5 958 976 A (MARENUS KENNETH D ET AL) 28 septembre 1999 (1999-09-28) revendications 1,4 exemple 1 | 1,17, 19-22 |
| Y | DD 268 157 A (BERLIN KOSMETIK VEB) 24 mai 1989 (1989-05-24) revendication 1 page 3; exemples 5,6 | 1,18-22 |
| Y | DATABASE WPI Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2003-451671 XP002251028 NN: "Superoxide dismutase-like substances useful in skin cosmetics for preventing aging and wrinkles of skin and improving fairness of skin, comprises extract of Ehretia belonging to Boraginaceae, as active ingredient" & JP 2002 363087 A (MARUZEN SEIYAKU KK) 18 décembre 2002 (2002-12-18) abrégé | 1 |

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 1 (partie)

La revendication 1 présente, plus spécifiquement la partie "... ou une biomolécule agoniste ou antagoniste audit polypeptide (cutané) ou à ladite protéine (cutanée)", a trait à une très grande variété de composés.

En fait, cette partie de la revendication contient tant d'options qui, surpassent celles indiquées dans les revendications dépendantes dirigées vers des "acides aminés" (rev.17), et vers des "protéines" (rev.18), et qui ne sont pas supportées par la description, que le manque de clarté au sens de l'Article 6 PCT qui s'en suit, est d'une importance telle qu'une recherche significative de l'objet de cette partie de la revendication 1 devient impossible.

En plus, l'expression de l'option "avec éventuellement un précurseur d'ATP" a trait à une très grande variété de composés.

Par conséquent, la recherche a été effectuée pour les parties de la demande qui apparaissent être claires, c'est à dire

- la revendication 1 autant qu'elle concerne "... un peptide biomimétique comprenant au plus six acides aminés, mimant un polypeptide cutané ou une protéine cutanée", et
- la revendication 1 autant qu'elle concerne des "biomolécules agoniste ou antagoniste..." tels qu'indiqués dans les rev.17 et 18, et tels que supportés par la description p.6, 1.6-13.
- la revendication 1 autant qu'elle concerne ATP, Gp4G ou Ap4A.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II. Si la demande devait être poursuivie dans la phase régionale devant l'OEB, il est rappelé au déposant qu'une recherche pourrait être effectuée durant la procédure d'examen devant l'OEB (voir Directive OEB C-VI, 8.5) à condition que les problèmes ayant conduit à la déclaration conformément à l'Article 17(2) PCT aient été résolus.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALEDemande Internationale n°
PCT/FR 03/03883**Cadré I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. Les revendications n°^s se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. Les revendications n°^s 1 (partie) se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
voir FEUILLE ANNEXÉE PCT/ISA/210
3. Les revendications n°^s sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prétendent ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°^s
4. Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°^s

Remarque quant à la réserve

Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
 Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Document de Internationale No

PT/FR 03/03883

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | | Membre(s) de la famille de brevet(s) | | Date de publication |
|---|------------------------|------------|--|---|--|
| DE 4139639 | A | 03-06-1993 | DE AT WO DE EP JP | 4139639 A1 157880 T 9310802 A1 59208894 D1 0552516 A1 6506000 T | 03-06-1993 15-09-1997 10-06-1993 16-10-1997 28-07-1993 07-07-1994 |
| US 4844884 | A | 04-07-1989 | CH AU AU CA DE ES FR GB IT | 671514 A5 600535 B2 8181087 A 1293930 C 3732154 A1 2008256 A6 2607699 A1 2198042 A ,B 1213915 B | 15-09-1989 16-08-1990 09-06-1988 07-01-1992 30-06-1988 16-07-1989 10-06-1988 08-06-1988 05-01-1990 |
| US 5885974 | A | 23-03-1999 | AU WO US | 4510896 A 9617621 A1 6303588 B1 | 26-06-1996 13-06-1996 16-10-2001 |
| FR 2783169 | A | 17-03-2000 | FR AU EP WO JP US | 2783169 A1 5627999 A 1112057 A1 0015188 A1 2002524487 T 6620419 B1 | 17-03-2000 03-04-2000 04-07-2001 23-03-2000 06-08-2002 16-09-2003 |
| WO 02085927 | A | 31-10-2002 | KR WO US | 2002081955 A 02085927 A1 2002192780 A1 | 30-10-2002 31-10-2002 19-12-2002 |
| FR 2668365 | A | 30-04-1992 | FR | 2668365 A1 | 30-04-1992 |
| FR 2546164 | A | 23-11-1984 | FR AT DE EP JP US | 2546164 A1 24917 T 3462039 D1 0126009 A1 59219257 A 4665053 A | 23-11-1984 15-01-1987 19-02-1987 21-11-1984 10-12-1984 12-05-1987 |
| FR 2706300 | A | 23-12-1994 | FR DE DE EP ES WO JP | 2706300 A1 69402861 D1 69402861 T2 0703776 A1 2103596 T3 9500115 A1 9504506 T | 23-12-1994 28-05-1997 06-11-1997 03-04-1996 16-09-1997 05-01-1995 06-05-1997 |
| JP 56115707 | A | 11-09-1981 | AUCUN | | |
| EP 0707844 | A | 24-04-1996 | CA EP | 2148202 A1 0707844 A2 | 21-04-1996 24-04-1996 |
| US 5254331 | A | 19-10-1993 | AUCUN | | |
| EP 0571198 | A | 24-11-1993 | AT AU | 150286 T 3870493 A | 15-04-1997 25-11-1993 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Recherche Internationale No

PCT/FR 03/03883

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|--|--|
| EP 0571198 | A | BR 9302025 A CA 2096507 A1 DE 69308928 D1 DE 69308928 T2 EP 0571198 A1 ES 2101229 T3 JP 2771422 B2 JP 6032726 A US 5559092 A | 30-11-1993 21-11-1993 24-04-1997 10-07-1997 24-11-1993 01-07-1997 02-07-1998 08-02-1994 24-09-1996 |
| DE 10032964 | A 24-01-2002 | DE 10032964 A1 WO 0202075 A1 EP 1296642 A1 JP 2004501953 T US 2004029969 A1 | 24-01-2002 10-01-2002 02-04-2003 22-01-2004 12-02-2004 |
| US 5958976 | A 28-09-1999 | AU 743896 B2 AU 9498498 A CA 2272880 A1 EP 0957887 A2 JP 2001505590 T WO 9913819 A2 | 07-02-2002 05-04-1999 25-03-1999 24-11-1999 24-04-2001 25-03-1999 |
| DD 268157 | A 24-05-1989 | DD 268157 A1 | 24-05-1989 |
| JP 2002363087 | A 18-12-2002 | AUCUN | |